

II.分担報告書－ 3

分担研究者 山崎 浩史
昭和薬科大学・薬学部・教授

分担研究報告書

催奇形性物質に係る雄性生殖を介した新規発生毒性評価法の開発
－ 薬物動態の解析－

研究分担者 山崎 浩史

昭和薬科大学・薬学部・教授

研究要旨

サリドマイド被害の重篤性に鑑み、より安全側に立脚して服用中の避妊を男性にも求めている。本来、エビデンスに基づいた安全性確保を担保すべきであるが、そのために必要な催奇形性物質に係る雄性生殖を介した新規発生毒性評価法が確立していない。

本研究では薬物動態や薬物応答性の種差を考慮しつつ、サリドマイドをモデル物質とした催奇形性誘発懸念物質の体内動態を基盤とする医薬品毒性評価法の確立に向けて、ヒトへの外挿可能性を踏まえた毒性試験プロトコールを作成するために重要な基盤情報収集を行うことを目的とした。分担研究として、ウサギにサリドマイドを経口投与した後の血中濃度推移を再現する薬物動態モデルを構築した。さらにサリドマイドの第一段階の酸化的代謝反応とその体内動態に関して、催奇形性を示すモデル動物であるウサギと、同作用が観察されないげっ歯類との間で比較することを目的とした。

A. 研究目的

本研究では薬物動態や薬物応答性の種差を考慮しつつ、サリドマイドをモデル物質とした催奇形性誘発懸念物質の体内動態を基盤とする医薬品毒性評価法の確立に向けて、ヒトへの外挿可能性を踏まえた毒性試験プロトコールを作成するために重要な基盤情報収集を行うことを目的とした。

なお分担研究として、ウサギにサリドマイドを経口投与した後の血中濃度推移を再現する薬物動態モデルを構築した。サリドマイドは、その芳香環が酸化されるヒト不均衡性代謝物5-水酸化体サリドマイドに変換され、さらなる活性化反応を受ける経路に代謝される一方、主要な解毒反応と考えられるげっ歯類型の脂肪環5'-水酸化体サリドマイドに代謝される。本研究ではサリドマイドの第一段階の酸化的代謝反応とその体内動態に関して、催奇形性を示すモデル動物であるウサギと、同作用が観察されないげっ歯類との間で比較することを目的とした。

B. 研究方法

雄性ウサギにサリドマイドを経口投与後、血漿および精漿中濃度時間推移を検討した。すなわち、サリドマイド 2.0 mg/kg体重、250 mg/kg体重 および 500 mg/kg体重 を一群 3 匹の雄性ウサギに単回経口投与し、経時的に血漿中および精漿中のサリドマイドおよびヒト不均衡性代謝物 5-水酸化体サリドマイドを液体クロマトグラフ-質量分析計により測定した。サリドマイドを各用量にて経口投与後のウサギ血中薬物濃度推移情報を元に 簡素な1-コンパートメントモデル用の吸収速度定数、分布容積および消失速度定数を薬物動態解析ソフトにより決定した。

ウサギで得た知見と比較を行うため、サリドマイド 250 mg/kg体重 を3-5 匹の雄性ラット、雄性マウスあるいはヒト肝細胞移植雄性マウスに単回経口投与し、動物の健康上状態を目視の上、同様に代謝物等を解析した。

方法の詳細および結果の各データの図表は、「II.分

担報告書－ 2 (葉形分) 」を参照。

(倫理面への配慮)

科学的及び動物愛護の配慮を十分行い、所属の研究機関が定める動物実験に関する規定、指針を遵守した。

C. 研究結果および考察

ウサギのサリドマイド低用量 (2.0 mg/kg体重) 群では、投与 2 時間後に最大血中濃度を示し、投与24時間後には検出限界まで消失した。本実験結果から、サリドマイド経口投与後のウサギ血中動態を再現記述する1-コンパートメントモデル用の吸収速度定数 1.6 h⁻¹、分布容積 3.6 L/kg および消失速度定数 0.38 h⁻¹を決定した。一方、サリドマイド中用量 (250 mg/kg体重) 群および高用量 (500 mg/kg体重) 群では、投与7時間後に最大血中濃度を示し、24時間時点まで高濃度を維持した (図6)。

サリドマイドの第一段階の酸化的代謝物に注目すると、ウサギ血漿中 5-水酸化体サリドマイド濃度は、いずれもサリドマイド濃度の約1/100 程度の低値を示した。ウサギ精漿中のサリドマイドおよび 5-水酸化体サリドマイドもウサギ血漿中と同様の濃度推移を示し、両者の血漿中と精漿中の濃度比に特段の濃縮は認められず、0.5から1.1の範囲内であった。以上の結果から、サリドマイドの経口投与により血漿中と概ね同程度のサリドマイドと5-水酸化体サリドマイドの受動的な精液移行が明らかになった。

サリドマイドは、その芳香環が酸化されるヒト不均衡性代謝物5-水酸化体サリドマイドに変換される経路に代謝される一方、主な解毒反応と考えられるげっ歯類型の脂肪環5'-水酸化体サリドマイドに代謝される。ラットにサリドマイド中用量 (250 mg/kg体重) を経口投与した場合、後者の 5'-水酸化体サリドマイドに優先的に変換された。この 5'-水酸化体サリドマイドは、尿中への排泄が容易な硫酸抱合体とグ

ルクロン酸抱合体としてラット血中に存在した。一方、ラットの血中5-水酸化体サリドマイド濃度は、上記ウサギの場合に比較して低値であった。予備的にヒト肝細胞移植マウスに中用量サリドマイドを投与した場合、その半数程度が48時間以内に死亡したが、ヒト肝細胞非移植マウスでは、ラットの場合と同様に、見かけのサリドマイド毒性作用は全く観察されなかった。

D. 結論

サリドマイド経口投与後のウサギ血中動態を再現記述する簡素な薬物動態パラメータ値を決定した。ウサギへの経口投与によるサリドマイド動態評価の過程で、中用量の反復投与と比較し、単回投与時にはサリドマイドの血中曝露が継続する知見も得られた。今後、サリドマイドの体内動態を再現する簡素な1-コンパートメントモデルから、詳細な生理学的薬物動態モデルの構築に向けた薬物動態学的取組みを継続する。

本研究班主任研究者により、ウサギにサリドマイド中用量を経口投与した場合に、ウサギ循環血中にヒト不均衡性代謝物5-水酸化体を伴い、形態学な骨格奇形をもたらす結果が得られた。げっ歯類では、サリドマイド同用量経口投与にて解毒的水酸化代謝物とその抱合体が高濃度に観察された。これらの実験動物におけるサリドマイドの薬物動態や薬物応答性の種差を総合的に考慮しつつ、ウサギにて実験的に得られた薬物動態特性を基盤情報とし、雌性ウサギ膈内へのサリドマイド投与試験を、薬物動態の視点から、さらに推進する予定である。

E. 健康危険情報

総括研究報告書参照

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Y Kamiya, S Otsuka, T Miura, M Yoshizawa, A Nakano, M Iwasaki, Y Kobayashi, M Shimizu, M Kitajima, F Shono, K Funatsu, H Yamazaki: Physiologically based pharmacokinetic models predicting renal and hepatic concentrations of industrial chemicals after virtual oral doses in rats. *Chem Res Toxicol.*, 33, 1736-1751 (2020)
- 2) Y Kamiya, M Yanagi, S Hina, K Shigeta, T Miura, H Yamazaki: Plasma, liver, and kidney exposures in rats after oral doses of industrial chemicals predicted using physiologically based pharmacokinetic models: A case study of perfluorooctane sulfonic acid. *J Toxicol Sci*, 45, 763-767 (2020)
- 3) Y Kamiya, K Handa, T Miura, M Yanagi, K Shigeta, S Hina, M Shimizu, M Kitajima, F Shono, K Funatsu, H Yamazaki, In silico prediction of input parameters for simplified physiologically based pharmacokinetic models for estimating plasma, liver, and kidney exposures in rats after oral doses of 246 disparate chemicals, *Chem Res Toxicol* 34 507-513 (2021)
- 4) T Miura, S Uehara, M Shimizu, H Suemizu, H Yamazaki: Pharmacokinetics of primary oxidative metabolites of thalidomide in rats and in chimeric mice humanized with different human hepatocyte. *J Toxicol Sci*, in press.

2. 学会発表

- 1) 山崎浩史: 化学物質の予測物性値を用いる生理学的薬物動態(PBPK)モデルを活用するヒト臓器中濃度推

移と毒性予測、第47回日本毒性学会学術年会(川崎(オンライン)) 2020年6月

- 2) 山崎浩史: 一般化学物質の経口吸収過程を含む簡素な生理学的薬物動態モデルを活用する体内動態評価、第47回日本毒性学会学術年会(川崎(オンライン)) 2020年6月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし